

UNIVERSIDAD: Universidad Nacional de La Plata.

NÚCLO DISCIPLINARIO/COMITÉ ACADÉMICO/OTROS TEMAS: Química.

TITULO DEL TRABAJO: **SINTESIS DE SULFAMIDAS CON ACTIVIDAD ANTIEPILEPTICA.**

AUTOR(ES): Juan Elvira; Mariana Sella Cravero, Luis E. Bruno-Blanch.

CORREO ELECTRONICOS DE LOS AUTORES: jeelvira@biol.unlp.edu.ar,
mariansella@hotmail.com, lbb@biol.unlp.edu.ar

PALABRAS CLAVES: sulfamidas, epilepsia, catecol sulfato.

PALAVRAS-CHAVES: sulfamidas, epilepsia, catecol sulfato.

INTRODUCCION

La epilepsia es la enfermedad neurológica más frecuente en el mundo. Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), afecta en promedio a 70 de cada 10 mil personas en el mundo, sin discriminación de edad, sexo o límites geográficos. La incidencia, puede variar entre los países desarrollados (50 personas/10.000) y en vías de desarrollo (100 personas/10.000) sugiriéndose que la causa de tal diferencia se debe a infecciones y enfermedades que ocasionan daños cerebrales asociados a este tipo de desórdenes¹. Se estima que al menos 50 millones de personas en el mundo padecen epilepsia.

El anticonvulsivo ideal debería curar la epilepsia o al menos suprimir las convulsiones, sin generar efectos adversos de ningún tipo. Lamentablemente no existe hasta hoy fármacos o procedimientos que logren controlar los distintos cuadros epilépticos. Los fármacos antiepilépticos (FAEs) pueden dividirse en FAEs de primera generación (aquellos que surgieron antes de los años '90, tales como fenobarbital, fenitoína, clonazepam, carbamazepina, ácido valproico) y de segunda generación (los que surgieron a partir de los años '90, entre los que podemos nombrar a felbamato, gabapentina, lamotrigina, topiramato, tiagabina, vigabatrin, oxacarbamacepina, zonizamida, diazepam, levetiracetam).

Los datos clínicos reportados indican que no se ha observado una mejora significativa entre los fármacos de primera y segunda generación respecto a su eficacia o a los efectos adversos. Debe agregarse que los fármacos no han logrado reducir la refractariedad en pacientes, la cual involucra al 25-40% de los mismos².

Motivado por ésta problemática nuestro grupo de trabajo está especialmente interesado en el hallazgo de nuevos agentes anticonvulsivos que mejoren la eficacia de los ya existentes y que a su vez generen menos efectos tóxicos.

El paso más importante en el descubrimiento de nuevas drogas es la elección de un modelo biológico apropiado para la evaluación inicial de los compuestos. El ensayo biológico debe detectar la acción anticonvulsiva provocando convulsiones experimentales en animales de laboratorio similares a las manifestaciones clínicas en humanos. En la etapa preclínica, los ensayos deben ser predictivos no sólo de la eficacia sino también de los efectos adversos. El lograr esto evita seguir adelante con el estudio de compuestos que no muestran una ventana terapéutica aceptable. Existe gran variedad de ensayos destinados a la evaluación de los distintos tipos de actividad anticonvulsiva^{3,4}.

En nuestro laboratorio los ensayos biológicos se llevan a cabo de acuerdo al programa Antiepileptic Drug Development Program (ADD)^{5,6,7}, el cual incluye 7 fases experimentales destinadas a la evaluación preclínica. Estas fases forman parte del

Anticonvulsant Screening Program (ASP), de las cuales en nuestro laboratorio se han realizado, para los compuestos presentados y hasta el momento, las fases 1 y 2.

Los ensayos biológicos de los compuestos sintetizados, se realizaron usando modelos de ataques agudos. El método consiste en provocar una convulsión en animales no epilépticos mediante un estímulo físico o químico. En el ensayo MES se induce el episodio convulsivo mediante la aplicación de una descarga eléctrica controlada. En el test de PTZ, ésta se provoca mediante la administración de un agente convulsivo: el ptilentetrazol (PTZ). En ambos casos se mide la capacidad del compuesto, administrado previamente, de evitar la convulsión. El ensayo utilizado para evaluar efectos adversos es el Test de Rotorod, el cual mide la posible capacidad neurotóxica.

Trabajos anteriores de nuestro laboratorio han permitido identificar el patrón farmacofórico de drogas anticonvulsivantes cuyo mecanismo de acción es por bloqueo de canales de sodio⁸. Este farmacóforo se caracteriza por presentar determinados requerimientos estructurales y electrónicos. Estos son: la existencia de un grupo polar, inicialmente asociado a una función amida o carboxílica, y una porción hidrofóbica definida por grupos alifáticos o aromáticos. Estudios por modelado molecular sugieren que el reemplazo bioisostérico de grupos derivados de la función carboxílica (carboxamida, ésteres) por funciones sulfamida, sulfonamida y sulfamatos es una alternativa válida para obtener estructuras nuevas en donde se vea incrementada la acción anticonvulsiva. Resultados experimentales de nuestro grupo de investigación así lo han confirmado.

Las distintas reacciones sintéticas conocidas para preparar sulfamidas, presentan restricciones, principalmente dada su alta reactividad, lo que limita su uso en moléculas polifuncionalizadas. Uno de los ejemplos que demuestran esta situación es el uso de cloruro de sulfurilo, que es excesivamente reactivo frente a aminoácidos.

En nuestro laboratorio se desarrolló la síntesis de sulfamidas simétricas, reacciones que implicaron el uso de cloruro de sulfurilo^{9,10} en presencia de aminas primarias o secundarias. Esta reacción presenta la limitación de que sólo permite obtener sulfamidas simétricas, ya que el producto intermediario de la misma es altamente inestable y reactivo, lo que impide hacer un control de reacción adecuado. Por esta razón se hace imposible su aislamiento y posterior uso para la obtención de sulfamidas asimétricas.

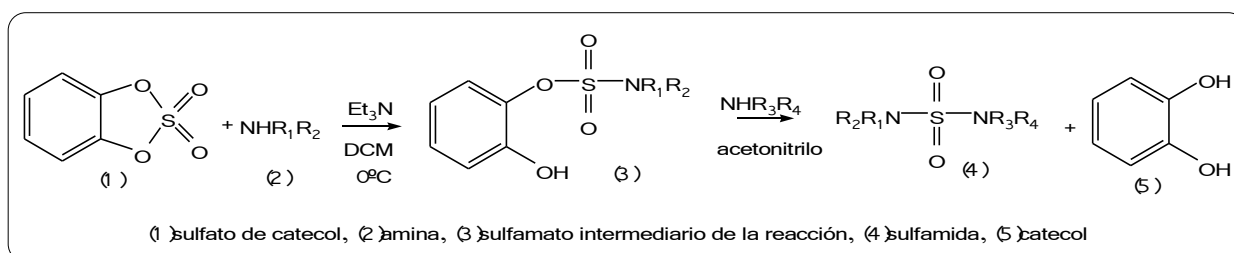
En una primera instancia, nuestro interés estuvo puesto en buscar un reactivo que de manera sencilla y económica nos permitiera obtener nuevas sulfamidas y con buenos rendimientos. Se pretendía que este reactivo sea versátil de manera de poder trabajar con sustituyentes polifuncionalizados como lo son los aminoácidos y obtener de esta manera un nuevo grupo de sulfamidas, que pueden ser consideradas peptidomiméticos.

En la literatura se encontraron varios compuestos que podrían actuar como transportadores del grupo sulfurilo y a partir de los cuales es posible sintetizar los

compuestos buscados. Algunos de estos compuestos los sintetizamos para ser probados como reactivos. Entre ellos el N-(tert-Butoxicarbonil)-N-[4-(dimetilazaniumilideno)-1,4-dihidropiridin-1-ilsulfonyl]azanida¹¹, 3-(Imidazol-1-sulfonyl)-1-metil-3H-imidazol-1-ium Triflato¹², y catecol sulfato³⁻¹⁶, este último, nos permitió cumplir los objetivos buscados.

Entre los objetivos de este trabajo esta el presentar la síntesis de nuevas sulfamidas mediante el uso de catecol sulfato, un reactivo que ha sido capaz de transferir el grupo sulfurilo a las funciones amina (NH₂) de manera selectiva y versátil. Este reactivo nos ha permitido desarrollar condiciones operativas que han mejorado significativamente el rendimiento final de la reacción y la selectividad de la misma, tanto para la diversidad de los sustituyentes sobre los nitrógenos, como la no interacción con otros grupos funcionales del sustrato.

El catecol sulfato nos permitió obtener intermediarios de reacción estables, lo cuales se han podido aislar e identificar fácilmente. Una vez obtenido el intermediario, éste se hace reaccionar con otra amina obteniendo una sulfamida como se muestra en el siguiente esquema:



De ésta manera hemos sintetizados y evaluado nuevas estructuras con gran éxito, no solamente en lo que a la síntesis se refiere sino también en cuanto a la respuesta biológica obtenida.

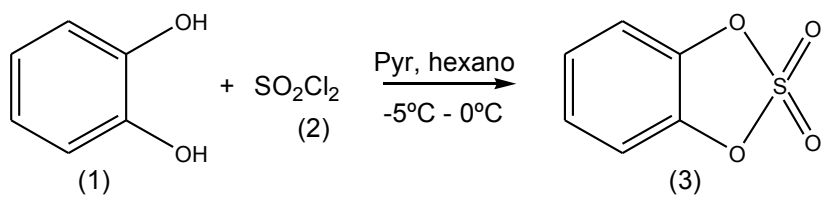
DESARROLLO

METODOLOGIA

Síntesis:

El catecol sulfato fue considerado por nosotros el mejor reactivo, para la obtención de los compuestos planteados, ya que cumplía con los requisitos de reactividad y selectividad.

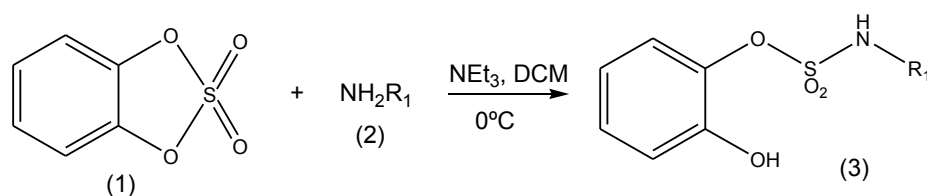
En el comienzo del trabajo experimental se realizó la obtención de catecol sulfato, para lo cual se hace reaccionar pirocatecol con cloruro de sulfurilo¹⁴ como se muestra en el siguiente esquema:



(1) pirocatecol; (2) Cloruro de sulfurilo; (3) Catecol sulfato, Pyr: piridina

El control de la reacción es llevado a cabo utilizando cromatografía en capa fina (CCF). Una vez finalizada la reacción, se procedió al aislamiento por lavados de la fase orgánica con solución de acetato cúprico al 5% y finalmente la purificación se realiza por destilación a presión reducida, obteniéndose un sólido cristalino, el cual fue caracterizado por P_f , CCF y RMN ^1H .¹⁴

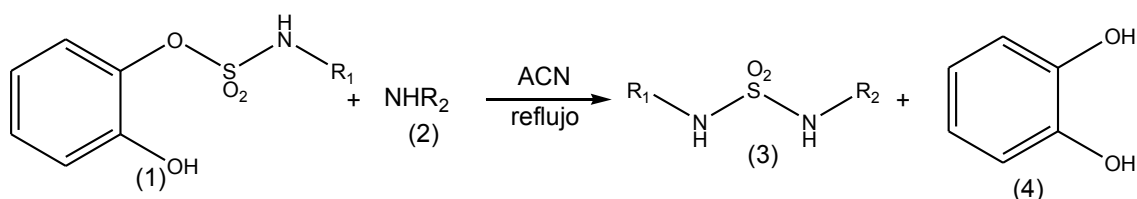
Una vez obtenido el reactivo se lo hace reaccionar con una amina para obtener el respectivo intermediario. La ecuación de la reacción se muestra en el siguiente esquema:



(1) catecol sulfato; (2) amina; (3) intermediario; NEt_3 : trietilamina

Una vez finalizada la reacción se procede al aislamiento realizando lavados con solución de ácido clorhídrico y luego solución saturada de cloruro de sodio. El producto obtenido se purifica según la técnica apropiada para cada producto. Finalmente los productos son caracterizados por P_f , CCF, RMN ^1H y ^{13}C , IR, HPLC-MS.

La obtención de nuestros compuestos es representado en el siguiente esquema:



(1) sulfamato (intermediario); (2) amina; (3) sulfamida; (4) pirocatecol; ACN: acetonitrilo

El control de reacción se hace por CCF, una vez finalizada la misma si procede a aplicar técnicas de aislamiento y purificación según lo conveniente para cada producto. Cada uno de los productos obtenidos es caracterizado por P_f , CCF, RMN ^1H y ^{13}C , IR y HPLC-MS

El compuesto obtenido es evaluado según el programa Antiepileptic Drug Development Program (ADD) del NIH.

Ensayos biológicos:

Para la evaluación de las drogas descritas anteriormente se utilizaron ratones adultos albinos Swiss (18 a 23 gr de peso) de ambos sexos. Con el fin de evitar alteraciones en la respuesta, se dejó que se estabilizaran en el bioterio durante al menos 24-48 hs antes del ensayo. Para minimizar la variabilidad biológica de los animales se mantuvieron en ciclos de 12h de luz/oscuridad permitiéndoles libre acceso de comida y agua.

Para una correcta evaluación de los compuestos, éstos deben ser administrados en forma de solución. Por ello nuestras drogas se disolvieron en PEG 400, ya que presentan baja solubilidad en agua. Las proporciones utilizadas en la preparación de las soluciones fueron 30% PEG 400 y 70% de agua.

Las drogas se administraron intraperitonealmente a razón de 0.01 ml/g de peso del animal.

En este trabajo se realizó la fase 1 del programa de Anticonvulsant Drug Development Program del NIH. Esta fase consiste en la identificación de la actividad anticonvulsiva y la neurotoxicidad de los compuestos sintetizados. Se realiza midiendo la respuesta de las drogas frente al MES y PTZ test a 0.5 y 4 horas, administrando el compuesto a concentraciones de 30, 100 y 300 mg/kg para cada tiempo, obteniendo de esta forma un perfil farmacológico de la droga. Todos los ratones usados se someten al test de Rotorod, previa y post administración del compuesto a ensayar¹⁷.

El **MES test** consiste en aplicar una descarga eléctrica controlada al animal. Los parámetros definidos para dicha descarga son los siguientes: una corriente de 50 mA, con una frecuencia de 60Hz, durante 0.2 seg y con un ancho de pulso de 2.8 milisegundos, La descarga eléctrica llega al animal a través de electrodos de oreja. Se considera que la droga protege frente a MES cuando en el ensayo no se observó una extensión tónica.

PTZ test este ensayo se induce la convulsión mediante la administración de PTZ a la dosis convulsiva 97 (85mg/kg)^{17,3}. La administración se realiza por vía s.c. Se observan los animales durante los 30 minutos posteriores a la inyección de PTZ. La ausencia de espasmos clónicos sostenidos al menos durante 5 segundos dentro del período de observación se consideró protección frente a este test.

El **Rotorod test**, detecta efectos neurotóxicos de la droga que se manifiestan como sedación o ataxia. Para ello se utiliza un equipo que consiste en un cilindro estriado de 3 cm de diámetro que gira a 6 r.p.m. El ensayo mide la capacidad del animal de mantener una caminata en el cilindro durante 1minuto durante 3 instancias sucesivas¹⁷. Esta evaluación se realiza previa a la administración de las drogas a evaluar, a fin de verificar el estado de los animales, y se repite antes de la inducción convulsiva, con el objeto de verificar si la droga produce neurotoxicidad (ataxia).

De acuerdo a los resultados obtenidos los compuestos pueden clasificarse en cuatro categorías⁷:

Clase 1: Compuestos activos a dosis de 100 mg/Kg o menos

Clase 2: Compuestos activos a dosis mayores a 100 mg/Kg

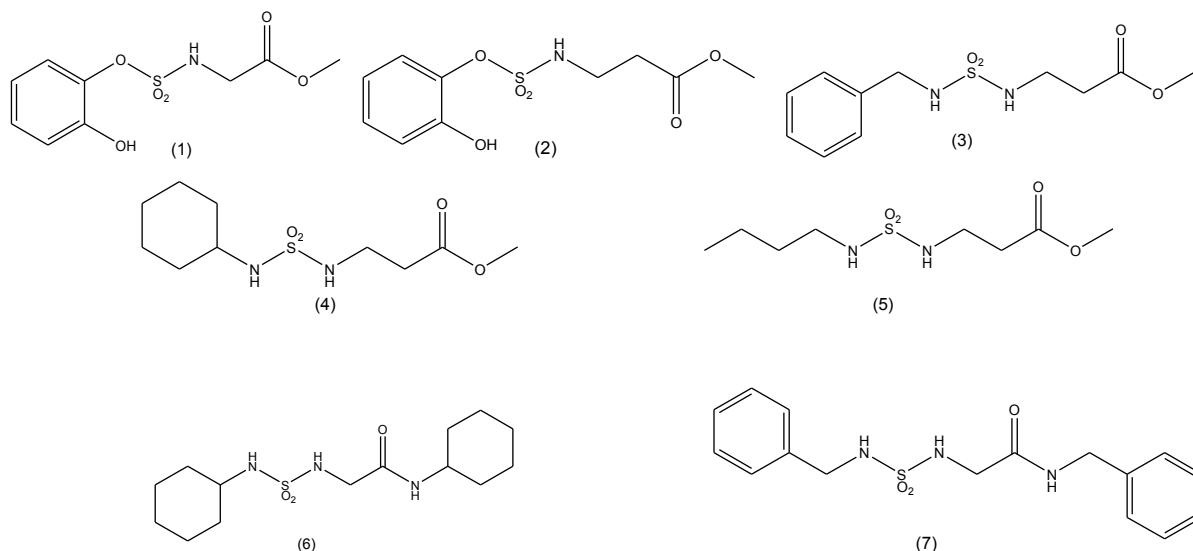
Clase 3: Compuestos inactivos a dosis inferiores a 300 mg/Kg

Clase 4: Compuestos inactivos a 300 mg/Kg y tóxicos a 30 mg/Kg o menos

De este modo aquellos compuestos que no manifiesten actividad apreciable o alta neurotoxicidad pueden descartarse rápidamente (clases 3 y 4), mientras que las más activas (clase 1) pasan a la siguiente fase del programa. Las drogas con actividad intermedia (clase 2), pueden considerarse o no de acuerdo a lo novedoso de su estructura.

RESULTADOS Y DISCUSION

Haciendo uso del catecol sulfato, hemos llevado a cabo la síntesis de 2 intermediarios (1) y (2) y 5 sulfamidas novedosas (3), (4), (5), (6) y (7).



Los resultados obtenidos de la síntesis de los compuestos mostrados arriba se vuelcan en la siguiente tabla:

compuesto	1	2	3	4	5	6	7
Rto (%)	63	80.4	82	58	57	37	52
P _f (°C)	aceite	102-104	58-59	49.5-50	47-48	172-174	178-180

A cada uno de los compuestos se le hizo RMN ^1H y ^{13}C , a las sulfamidas se les hizo además IR, y todos los compuestos corridos en HPLC-MS y se detectaron los pesos moleculares:

Compuesto (1): $^1\text{HNMR}$ (CDCl_3), δ , ppm: 7.26-6.84 (m, H aromático), 5.74 (s ancho, NH), 4.75 (s, O- CH_3), 3.52 (c, -NH- CH_2 -), 2.64 (t, - CH_2 -CO-), 1.95 (s ancho, -OH)

$^{13}\text{CNMR}$ (CDCl_3): 172.98 ($\text{C}=\text{O}$), 115.51-128.65 (aromático), 52.50 (CO- CH_3), 40.29 (-NH- CH_2 -), 34.33 (CO- CH_2 -). HPLC-MS: $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 284, $[\text{M}-\text{H}]^-$: 260.

Compuesto (2): $^1\text{HNMR}$ (CDCl_3), δ , ppm: 7.27-6.82 (m, aromático), 5.97 (t, NH), 4.03 (d, - CH_2 -CO-), 3.76 (s, -O- CH_3), 2.35 (s ancho, -OH).

$^{13}\text{CNMR}$ (CDCl_3), δ , ppm: 170.70 ($\text{C}=\text{O}$), 148.41, 137.82, 128.62, 123.66, 121.03, 118.36 (aromático), 53.39 (O- CH_3), 45.50 (- CH_2 -CO-). HPLC-MS: $[\text{M}-\text{H}]^-$: 274

Compuesto (3): $^1\text{HNMR}$ (CDCl_3), δ , ppm: 7.25-7.35 (m, H aromático), 5.03 (t, -NH- CH_2 - CH_2 -CO-), 4.96 (t, -NH-Bz), 4.16 (d, - CH_2 - Ar), 3.65 (s, -O- CH_3), 3.27-3.18 (m, -NH- CH_2 - CH_2 -CO-), 2.50 (t, -NH- CH_2 - CH_2 -CO-). $^{13}\text{CNMR}$ (CDCl_3), δ , ppm: 172.78 ($\text{C}=\text{O}$), 137.08, 128.97, 128.29, 128.13 (aromático), 52.17 (O- CH_3), 47.40 (- CH_2 - Ar), 38.90 (-NH- CH_2 - CH_2 -CO-), 34.06 (-NH- CH_2 - CH_2 -CO-). IR (BrK) cm^{-1} : 3264, 3250 (NH), 3030 (Ar), 1744 (CO), 1154, 1319 (SO_2).

HPLC-MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$: 273, $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 295

Compuesto (4): $^1\text{HNMR}$ (CDCl_3), δ , ppm: 4.59 (t, -NH- CH_2 - CH_2 -CO-), 3.5 (d, -NH- C_6H_{11}), 3.67 (s, -O- CH_3), 3.26 (c, -NH- CH_2 - CH_2 -CO-), 2.6 (t, -NH- CH_2 - CH_2 -CO-), 1.64-1.97 (m, C_6H_{11}).

$^{13}\text{CNMR}$ (CDCl_3), δ , ppm: 172.79 ($\text{C}=\text{O}$), 52.12 (O- CH_3), 38.95 (-NH- CH_2 - CH_2 -CO-), 34.13 (-NH- CH_2 - CH_2 -CO-), 52.92, 34.13, 25.48, 25.00 (- C_6H_{11}). IR (BrK) cm^{-1} : 3300, 3264 (NH), 1740 (CO), 1140, 1325 (SO_2). HPLC-MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$: 265, $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 287

Compuesto (5): $^1\text{HNMR}$ (CDCl_3), δ , ppm: 5.03 (t, -NH- CH_2 - CH_2 -CO-), 4.61 (t, -NH-But), 3.68 (s, -O- CH_3), 3.27 (c, -NH- CH_2 - CH_2 -CO-), 3.00 (c, -NH- CH_2 - CH_2 - CH_2 - CH_3), 2.60 (t, -NH- CH_2 - CH_2 -CO-), 1.5 (m, -NH- CH_2 - CH_2 - CH_2 - CH_3), 1.35 (m, -NH- CH_2 - CH_2 - CH_2 - CH_3), 0.89 (t, -NH- CH_2 - CH_2 - CH_2 - CH_3). $^{13}\text{CNMR}$ (CDCl_3), δ , ppm: 172.78 ($\text{C}=\text{O}$), 52.12 (O- CH_3), 43.11 (-NH- CH_2 - CH_2 - CH_2 - CH_3), 38.92 (-NH- CH_2 - CH_2 -CO-), 34.16 (-NH- CH_2 - CH_2 -CO-), 31.74 (-NH- CH_2 - CH_2 - CH_2 - CH_3), 20.07 (-NH- CH_2 - CH_2 - CH_2 - CH_3), 13.82 (-NH- CH_2 - CH_2 - CH_2 - CH_3).

IR (BrK) cm^{-1} : 3281, 3261 (NH), 1737 (CO), 1142, 1285 (SO_2). HPLC-MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$: 239, $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 261

Compuesto (6): $^1\text{HNMR}$ (CDCl_3), δ , ppm: 7.52 (d, C_6H_{11} -NH-CO-), 6.81-6.92 (m, -NH- SO_2 -NH-), 3.36 (d, -NH- CH_2 -CO-), 1.13-1.8 (m, C_6H_{11}). $^{13}\text{CNMR}$ (CDCl_3), δ , ppm: 168.00 ($\text{C}=\text{O}$), 45.93 (-NH- CH_2 -CO-), 53.23, 48.16, 34.01, 32.93, 25.83, 25.72, 25.34, 25.16 (- C_6H_{11}).

IR (BrK) cm^{-1} : 3342, 3285 (NH), 1671 (CO), 1142, 1285 (SO_2). HPLC-MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$: 318, $[\text{M}+\text{Na}]^+$: 340

Compuesto (7): $^1\text{HNMR}$ (CDCl_3), δ , ppm: 8.37 (t, -CO-NH-Bz), 7.45 (t, - SO_2 -NH-Bz), 7.34-7.22 (m, H aromático), 4.31 (d, -NH- CH_2 -CO-), 4.06 (d, -CO-NH- CH_2 - C_6H_5), 3.55 (- SO_2 -NH-

CH₂-C₆H₅). ¹³CNMR (CDCl₃), δ, ppm: 169.54 (C=O), 46.8 (-CO-NH-CH₂-C₆H₅), 46.14 (-SO₂-NH-CH₂-C₆H₅), 43.10 (-NH-CH₂-CO-), 140.25-127.75 (aromático). IR (BrK) cm⁻¹: 3285 (NH), 1642 (CO), 1142, 1257 (SO₂). HPLC-MS: [M+H]⁺: 334, [M+Na]⁺: 356

En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos de los ensayos biológicos:

Compuesto	Dosis (mg/Kg)	MES tiempo (h)		PTZ tiempo (h)		Roto Rod tiempo (h)		Clase
		0.5	4h	0.5	4	0.5	4	
2	30	0/3	0/3	1/3	0/3	0/6	0/6	1
	100	1/3	1/3	0/3	0/3	0/6	0/6	
	300	0/3	0/3	1/3	0/3	0/6	0/6	
3	30	0/3	0/3	0/3	1/3	0/6	0/6	1
	100	1/3	0/3	0/3	0/3	0/6	0/6	
	300	1/3	0/3	0/2	0/3	0/5	0/6	
4	30	0/3	0/3	EE	EE	0/3	0/3	1
	100	1/3	2/3	EE	EE	0/3	0/3	
	300	0/3	0/3	EE	EE	0/3	0/3	
5	30	1/3	1/3	0/3	0/3	0/6	0/6	1
	100	1/3	1/3	0/3	0/3	0/6	0/6	
	300	2/3	0/3	0/3	0/3	0/6	0/6	
6	30	2/3	3/3	0/3	0/3	0/6	0/6	1
7	30	2/3	0/3	0/3	0/3	0/6	0/6	1

EE: en etapa de evaluación

CONCLUSION

Hemos logrado encontrar un excelente reactivo para la obtención de sulfamidas, que cumple con las características buscadas de selectividad y reactividad: el catecol sulfato. Este nos ha permitido obtener sulfamidas a través de una ruta sintética favorable, observando, en la mayoría de los casos, muy buenos rendimientos. Se ha logrado aislar y purificar el intermediario de cada reacción. Esto es de suma importancia, ya que permite la sustitución de distintas aminas, obteniendo de esta forma, una gran diversidad de sulfamidas novedosas. De esta manera se han sintetizado 5 nuevas sulfamidas, las cuales cumplen con el requerimiento estructural y electrónico del farmacóforo propuesto por nuestro grupo. Las estructuras sintetizadas son todas derivadas de aminoácidos, por tanto se comportan como peptidomiméticos. Las sulfamidas sintetizadas y uno de los

intermediarios han sido evaluados farmacológicamente. Todos estos compuestos son de clase 1 con lo cual se puede pasar a la siguiente fase del programa de evaluación.

REFERENCIAS

- 1.-World Health Organization 2006. Epilepsy: aetiogy, epidemiology and prognosis; Fact sheet N°165, Revised February **2001**. Sitio Web: www.who.int/mediacentre/factsheets/fs165/en/.
 - 2-Regesta, G., Tanganelli, P. *Epilepsy Res* . **1999**, 34, 109–122.
 - 3-Fischer, R.S. *Brain Res. Rev.* **1989**, 14, 245-278.
 - 4-Loscher, W.; Schmidt D. *Epilepsy Res.* **1994**. 17, 95-134.
 - 5-Stables, J. P.; Kupferberg H. J., Chapter 16: The NIH Anticonvulsant Drug Development (ADD) Program: preclinical anticonvulsant screening project. En *Molecular and cellular targets for antiepileptic drugs*; Avanzani, G.; Regesta, G.; Tanganelli, P.; Avoli, M., eds., John Libbey & Company Ltd, **1997**, 191-198.
 - 6- Porter, R. J.; Cereghino, J. J.; Gladding, G. D.; Hessie, B. J.; Kupferberg H. J., Scoville, B.; White, B. G., *Clev. Clin. Q.*, **1984**, 51, 293-305.
 - 7- Malawska B.; Kulig, K.; Spiewak A.; Stables, J. P., *Bioorg. Med. Chem.*, **2004**, 12, 625-632
 - 8-Tasso, S.M.; Bruno-Blanch, L. E.; Estiú, G. L. *J. Mol. Model.* **2001**, 7, 231-239
 - 9-Vandi, A.; Moeller, T.; Audrieth, L. *J. Org. Chem.* **1961**, 26, 1136-1138.
 - 10- Wheeler, K. W.; Degering, F. *J. Am. Chem. S.* **1944**, 66, 1242-1244.
 - 11- Winum, J. ; Toupet, L.; Barragan, V. ; Dewynter, G.; Montero, J. *Organic let.* **2001**, 3, 2241-2243
 - 12- Beaudoin, S.; Kinsey K. E.; Burns J. F. *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 115-119
 - 13-DuBois, G. E. *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 5373-5375.
 - 14-DuBois, G. E. ; Stephenson, R. *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 5371-5373.
 - 15- Micklefield, J.; Fettes, K. J.; *Tetrahedron Let.*, **1997**, 38, 5387-5390.
 - 16- Micklefield J.; Fettes K. J. *Tetrahedron Let.*, **1998**, 54, 2129-2142.
 - 17- Stables, J. P.; KUpferberg, H. J.; Avanzani G.; Regesta G.; Tanganelli P.; Avoli M.; eds., John Libbey & Company L. *Molecular and cellular targets for antiepileptic drugs*, **1997**, 191-198.
-